

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-003487

(43)Date of publication of application : 09.01.2002

(51)Int.Cl.

C07D311/36

(21)Application number : 2000-184802

(71)Applicant : KIKKOMAN CORP

(22)Date of filing : 20.06.2000

(72)Inventor : IZUMI TORU
TOBE KOUICHIROU
KASAI KOICHI
OKADA KIYOSHI
OBATA AKIO

(54) METHOD FOR PRODUCING ISOFLAVONE COMPOUND

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To efficiently produce an isoflavone compound from a soy sauce cake.

SOLUTION: The soy sauce cake heat-treated at $\cdot 105^{\circ}\text{C}$ is extracted with alkaline water and the resultant extract liquid is brought into contact with an adsorbent to adsorb the isoflavone compound in the extract liquid. The compound is then eluted with alkaline water and precipitated under acidic conditions to obtain the isoflavone compound.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-3487

(P2002-3487A)

(43) 公開日 平成14年1月9日(2002.1.9)

(51) Int.Cl.⁷

C 0 7 D 311/36

識別記号

F I

C 0 7 D 311/36

データベース(参考)

4 C 0 6 2

審査請求 未請求 請求項の数3 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願2000-184802(P2000-184802)

(22) 出願日 平成12年6月20日(2000.6.20)

(71) 出願人 000004477

キッコーマン株式会社

千葉県野田市野田250番地

(72) 発明者 和泉 亨

千葉県野田市野田250番地キッコーマン株式会社内

(72) 発明者 戸邊 光一郎

千葉県野田市野田250番地キッコーマン株式会社内

(72) 発明者 葛西 浩一

千葉県野田市野田250番地キッコーマン株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 イソフラボン化合物の製造方法

(57) 【要約】

【課題】 醤油粕からイソフラボン化合物を効率よく製造すること。

【解決手段】 105℃以上で加熱処理した醤油粕をアルカリ水で抽出し、この抽出液を吸着剤に接触させて抽出液中のイソフラボン化合物を吸着させ、次いで該化合物をアルカリ水で溶出し、酸性下で沈澱させ、取得する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 醤油粕からイソフラボン化合物を製造する方法において、加熱処理した醤油粕をアルカリ水で抽出することを特徴とするイソフラボン化合物の製造方法。

【請求項2】 下記の工程からなるイソフラボン化合物の製造方法。

(1) 加熱処理した醤油粕をアルカリ水で抽出する工程。

(2) 抽出液中のイソフラボン化合物を吸着剤に吸着させる工程。

(3) 吸着剤からイソフラボン化合物をアルカリ水で溶出する工程。

(4) 溶出液をpH6以下に調整する工程。

(5) 沈殿物を回収する工程。

【請求項3】 加熱処理した醤油粕が、105℃以上で加熱処理した醤油粕である請求項1又は請求項2に記載のイソフラボン化合物の製造方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】 本発明は、醤油の副産物である醤油粕を原料とし、大豆に由来するイソフラボン化合物、特にイソフラボンの非配糖体であるアグリコン類を製造する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 大豆に含まれるイソフラボン化合物として、ゲニステイン、ダイゼイン、グリシテインの3種類のイソフラボンアグリコンと、それぞれのアグリコンに対応するイソフラボン配糖体、マロニルイソフラボン配糖体及びアセチルイソフラボン配糖体など、合わせて12種類の化合物が知られている。大豆には、約0.3%のイソフラボン化合物が含まれているが、そのほとんどが3種類のイソフラボン配糖体であり、イソフラボンアグリコンの含有率は非常に低い。一方、大豆中のイソフラボン配糖体は、醤油醸造工程において、麹の酵素作用によりその殆どがイソフラボンアグリコンに変換される。イソフラボンアグリコンは水に不溶性であり、醤油製造の副産物である醤油粕に濃縮されるため、醤油粕はイソフラボン化合物、特にイソフラボンアグリコンの製造の原料として好適に用いられる。

【0003】 これらのイソフラボン化合物は、エストロゲン作用、抗酸化作用、抗菌作用、抗脂血作用、抗コレステロール作用等のあることが知られており、また最近では、ガン細胞の分化誘導作用、ガン遺伝子阻害作用等の制ガン効果も確認され、その有用性が注目されている。そしてイソフラボン化合物のうち、制ガン効果等の医薬的な効果は、イソフラボン化合物の配糖体ではなくダイゼイン、ゲニステイン等のイソフラボンアグリコンに主に認められることも指摘されている。

【0004】 このようなイソフラボン化合物を得る方法

としては、種々の方法が提案されているが、本発明者等は先に、醤油製造の副産物である醤油油及び醤油粕中のイソフラボン化合物を、有機溶剤により抽出して製造する方法（特開平6-170756号参照）や、醤油粕のアルコール抽出物又は醤油油にアルカリ水を添加し、抽出した後、酸性にし、沈殿して製造する方法（特開平10-218874号参照）を特許出願した。しかしこれらの製造方法は、何れの場合も、醤油粕を原料として用いるとき、アルコールなどの有機溶剤で抽出する工程を必須としている。しかしながら、アルコールなどは沸点の低い、可燃性の有機溶剤であり、工業上の取り扱いに嚴重な注意が必要である上、設備的にも一定の要件が義務づけられており、安全性、経済性の点から、上述したアルコールなどの有機溶剤を用いる製造方法等は、工業的に必ずしも満足できるものとは言えず、さらに上記製造方法等は、醤油粕からイソフラボン化合物を製造する場合、収率の点からも満足できるものとは言えなかった。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の課題は、アルコールを用いることなく、容易に且つ効率よく醤油粕からイソフラボン化合物を製造する方法を提供することである。

【0006】

【課題を解決するための手段】 本発明者等は、醤油の副産物のうち、原料として工業的に取り扱い易い醤油粕からのイソフラボン化合物の製造方法について、引き続き検討を重ねた。従来、醤油粕は、大豆由来の多糖成分等の高分子物質を多量に含んでおり、水を用いて抽出しようとするとき、水がそれらの物質中に取り込まれてしまい、水の部分を分離することが難しく、特にアルカリ水を用いるとき、その分離は更に著しく困難であった。しかし、本発明者等は、加熱処理した醤油粕を原料として用いることにより、アルカリ水を加えても容易に分離できること、さらに、アルコールを用いることなく、アルカリ水で容易に且つ効率よくイソフラボン化合物を抽出できることを見出し、これらの知見に基づき本発明を完成するに至った。

【0007】 すなわち本発明は、加熱処理、特に好ましくは105℃以上で加熱処理した醤油粕をアルカリ水で抽出し、抽出液中のイソフラボン化合物を吸着剤に吸着せしめ、次にアルカリ水で溶出した後、溶出液をpH6以下に調整し、沈殿するイソフラボン化合物を回収するイソフラボン化合物の製造方法である。

【0008】

【発明の実施の形態】 以下本発明を具体的に説明する。本発明において、醤油粕とは、丸大豆、脱皮大豆、脱脂大豆等を原料として製造される通常の醤油製造工程で副産物として得られるものであり、イソフラボン化合物を含有する。本発明の原料となる加熱処理した醤油粕と

は、上記醤油粕を加熱することにより、得られるもので、通常用いられている加熱方法であれば如何なる処理方法も用いることができる。例えば、箱型乾燥機（不二パウダ社製）、流動層乾燥機（徳寿工作所社製）、バンド型通気乾燥機（大川原製作所社製）、ロータリー乾燥機（大和三光製作所社製）等を用いることができる。この加熱処理により、醤油粕にアルカリ水を加えたとき、醤油粕とアルカリ水が非常によく分離できるようになる。

【0009】加熱処理の条件は、醤油粕の状態によっても異なるが、上記目的を達成できる条件であれば如何なる条件でも良く、加熱温度としては、例えば、80～280℃、好ましくは105～250℃が挙げられる。特に、105℃以上で著しい効果が認められる。処理時間については、加熱温度によっても異なるが、例えば、達温後、直ちに又はそれ以上の時間を適宜選ぶことができる。例えば、箱型乾燥機を使用した場合、105℃で、4時間加熱処理を行なうことが好ましい。醤油粕の過度の加熱処理は醤油粕中のイソフラボン化合物の分解を引き起こし、一方加熱処理が不十分なときには、後にアルカリ水で抽出するとき、醤油粕が膨潤し、分離がわるくなり、イソフラボン化合物の抽出効率が低下する。

【0010】さらに、抽出効率を上げるため、又以下の工程で取り扱い易くするため、加熱処理前又は加熱処理後、何れでも、醤油粕を適当な大きさの粒子、例えば短冊状、粉末状など、好ましくは直径1～3mmの粒子に適宜粉碎することが望ましい。

【0011】本発明の製造方法では、先ず最初の工程として、この加熱処理した醤油粕をアルカリ水で抽出し、醤油粕に含まれるイソフラボン化合物をアルカリ水中に抽出せしめる。この工程に用いるアルカリ水は、イソフラボン化合物を抽出できるアルカリ水であれば如何なるアルカリ水でも用いることができるが、例えば、アンモニア水、アンモニア塩化アンモニウム水や水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等の水溶液などの食品用途に用いられるアルカリ水が好適に用いられる。用いるアルカリ水の濃度及び量は、醤油粕中のイソフラボン化合物を効率よく抽出できる濃度及び量であれば、如何なる量及び濃度でもよく、適宜それぞれを選ぶことができる。量は、例えば、用いる醤油粕の2～50倍量、好ましくは10～20倍量のアルカリ水が用いられる。濃度は、例えば、0.01～5M、好ましくは0.05～0.2Mのアルカリ水が用いられる。なお、本発明では、アルカリ水で抽出する前にあらかじめ醤油粕を洗浄する方法が、純度の高い本発明のイソフラボン化合物を製造するために、好ましい方法として挙げられる。例えば、醤油粕を醤油粕の10倍量の水で洗浄する方法などが挙げられる。

【0012】醤油粕をこれらのアルカリ水で抽出する方法としては、一般に用いられているバッチ法、カラム

法、向流抽出機等を用いる方法などの抽出方法が適宜用いられるが、例えば、適当な大きさに粉碎した醤油粕を、タンク等の容器に入れ、アルカリ水を直接添加し、適宜攪拌した後、アルカリ水を分離して抽出する方法や円筒状のカラムに適当な大きさに粉碎した醤油粕を充填したのち、このカラムにアルカリ水を通過させる方法等が本発明では好ましく用いられる。このように、本発明では、加熱処理した醤油粕を用いることにより、従来困難とされていた醤油粕とアルカリ水の分離を容易に達成することができる。

【0013】次の工程では、得られたアルカリ水の抽出液中に含まれるイソフラボン化合物を吸着剤に吸着させる。本発明に用いられる吸着剤としては、例えば、合成吸着剤、活性炭、シリカゲル、アルミナ等が挙げられる。活性炭は粉状、粒状、球状如何なるものでも使用できるが、作業上、粒状活性炭が好ましく用いられる。具体的には、ダイアイオンHP-20（三菱化学社製）、アンバーライトXAD（オルガノ社製）、特に、精製白鷺活性炭（武田薬品工業社製）などが好ましく用いられる。抽出液中のイソフラボン化合物を吸着剤に吸着させるためには、抽出液と吸着剤を接触せしめる。接触方法は、バッチ法、カラム法等の一般的方法が用いられる。例えば、本発明では、吸着剤を充填したカラムに抽出液を通過させる方法が効率的な方法として、好ましく用いられる。この場合、例えば、抽出液を通過させる際の抽出液の流入速度として、空間速度（SV）が0.1～50、好ましくはSVが20以下が挙げられる。また用いる吸着剤により、吸着効率を上げるために、接触せしめる前に、抽出液のpHを適宜調整することもできる。例えば、pH12以下、好ましくはpH6～8に調整する。この時、pHを調整するために用いる酸溶液は、塩酸、硫酸、酢酸、リン酸、コハク酸、クエン酸などの食品用途に用いられる酸溶液が好適に用いられるが、特に限定されない。また、抽出液と接触させ、イソフラボン化合物を吸着せしめた吸着剤を、更に必要により、洗浄液で洗浄することによりイソフラボン化合物含量の高い、高品質の製品を得ることができる。洗浄液は用いる吸着剤によっても異なるが、例えば、水や酸溶液等を洗浄液として挙げることができる。この洗浄に用いる酸溶液は、塩酸、硫酸、酢酸、リン酸、コハク酸、クエン酸などの食品用途に用いられる酸溶液が好適に用いられるが、特に限定されない。また洗浄する方法としては、一般的に用いられている、例えばバッチ法、カラム法等の洗浄方法を適宜用いることができる。

【0014】次の工程では、吸着剤に吸着したイソフラボン化合物をアルカリ水で溶出する。この工程に用いるアルカリ水は、イソフラボン化合物を吸着剤から溶出できるアルカリ水であれば如何なるアルカリ水でも用いることができる。例えば、アンモニア水、アンモニア塩化アンモニウム水又は水酸化ナトリウム、水酸化カリウ

ム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等の水溶液など食品用途に用いられるアルカリ水が好適に用いられる。用いるアルカリ水の濃度及び量は、吸着剤からイソフラボン化合物を効率よく溶出できる濃度及び量であれば、如何なる濃度及び量でもよく、適宜それぞれを選ぶことができる。アルカリ水の濃度は、例えば、0.01～5Mの濃度が挙げられる。溶出に必要なアルカリ水の量は、用いるアルカリ水の濃度によって異なるが、使用する吸着剤の3～30倍量、好ましくは5～10倍量が用いられる。吸着剤からイソフラボン化合物をアルカリ水で溶出する方法としては、一般的に用いられている、例えばバッチ法、カラム法等の溶出方法が適宜用いられる。カラム法を用いて溶出する場合、溶出するときのアルカリ水の流速は、例えば、SVが0.1～20、SVが3以上が好ましい。また、このアルカリ水で溶出する工程を一定温度に保温することにより、イソフラボン化合物の溶出効率を上げることができる。例えば、室温でも良いが、容器やカラムの温度を40℃以上、好ましくは40～50℃に保温する方法等が挙げられる。また、本方法に用いた活性炭や合成吸着剤等の吸着剤は、本工程終了後、適宜洗浄することにより繰り返し使用することができる。例えば、活性炭の場合、熱水あるいは熱アルカリ水で洗浄するのが好ましい。

【0015】次の工程では、前工程で溶出して得られたイソフラボン化合物を含むアルカリ水をpH6以下、好ましくはpH3～6に調整することによりイソフラボン化合物を沈殿させる。pHを6以下に調整するためには、一般に酸溶液を加える方法が好ましい。ここで使用される酸溶液としては、塩酸、硫酸、酢酸、リン酸、コハク酸、クエン酸などの食品用途に用いられる酸溶液が好適に用いられるが、特に限定されない。本発明のイソフラボン化合物は、pH6以下では沈殿物として析出する。

【0016】最終工程では、得られた沈殿物を回収し、イソフラボン化合物を得る。沈殿物を回収する方法は、

一般的に用いられている方法、例えば、フィルター式濾過機、スクリーデカンターなどの固液分離装置などを用いる方法などが用いられる。得られたイソフラボン化合物を含有する沈殿物は、必要により、適宜水洗することにより、さらに脱色され、純度も向上させることができる。さらに該沈殿物は、必要により凍結乾燥、真空乾燥など、常法により乾燥させイソフラボン化合物の粉末とすることができる。

【0017】得られたイソフラボン化合物を高速液体クロマトグラフィー（HPLC、日本分光社製）を用いて、常法（Kudouら、Agric.Biol.Chem., 55, 2227-2233, (1991)の一部改変方法）により分析したところ、ダイゼイン、ゲニステインが殆どであり、大豆に含まれるアグリコンと何ら変わらないことを確認した。

【0018】醤油粕中のイソフラボン化合物は殆どがアグリコンであり、効率の良い抽出方法を用いる本発明の方法により、従来の方法に比べ、より高い収率で、アグリコン含量のより高いイソフラボン化合物を製造することができる。

【0019】

【実施例】以下、実施例により、本発明を更に具体的に説明する。本発明の技術的範囲は、これらの例により、何ら限定されない。

実施例1（醤油粕の加熱処理による効果）

丸大豆を原料として製造された醤油の副産物として得られた醤油粕を直径約1mmの粒子に粉碎した後、100gづつ小分けし、それぞれの醤油粕を送風定温乾燥機（東京理化学器械社製）に入れて、それぞれ80、105、200、250℃の温度条件下で4時間加熱処理をした。その後、それらの醤油粕を放冷し、それぞれに0.125M水酸化ナトリウム水溶液を1L加えて抽出し、それぞれのアルカリ水の分離度合いを評価し、結果を表1に示した。

【0020】

【表1】

加熱処理温度（℃）	アルカリ水の分離度
80	+
105	++++
150	+++++
200	+++++
250	+++++

【0021】これらの結果より、醤油粕を105℃以上加熱処理を行なうことにより、アルカリ水で抽出するとき、醤油粕とアルカリ水が非常によく分離できるようになった。

【0022】実施例2（活性炭を用いるイソフラボン化

合物の製造）

丸大豆を原料として製造された醤油の副産物として得られた醤油粕2kgを直径約1mmの粒子に粉碎した後、箱型乾燥機に入れて110℃で4時間加熱処理を行なった。放冷後、加熱処理した醤油粕1kgをカラム（内径

40 cm×高さ80 cm)に充填し、水10 Lで洗浄した。その後、0.125 M水酸化ナトリウム水溶液10 Lで、洗浄した醤油粕を充填したカラムを通過せしめ、醤油粕中のイソフラボン化合物を抽出し、イソフラボン化合物を含むアルカリ水の抽出液8.8 Lを得た。この抽出液に、2 M塩酸を加え、抽出液のpHを8に調整した。次に、このpHを8に調整した抽出液を活性炭(粒状・白鷺、武田薬品工業社製)を充填したカラム(内径5 cm×高さ20 cm)に、SVが10で通過せしめ、アルカリ水で抽出されたイソフラボン化合物を活性炭に吸着させた。このカラムを水400 mL、さらに0.2 M塩酸800 mLで洗浄した。洗浄後、カラム温度を50℃に保温したまま、0.1 M水酸化ナトリウム水溶液をSV=1.7で流入、通過せしめ、吸着されたイソフラボン化合物を溶出した。イソフラボン化合物を含むアルカリ水の溶出液600 mLを集めた。得られた溶出液に2 M塩酸の酸溶液を加え、pHを4に調整し、イソフラボン化合物の沈殿を析出せしめた。沈殿をメンブランフィルターで濾取した後、固形分を凍結乾燥して本発明のイソフラボン化合物の粉末3.46 gを製造した。この粉末の一部を、常法により、HPLC(日本分光社製)で分析したところイソフラボンアグリコンの純度は46.8%であった。

【0023】実施例3(合成吸着剤を用いるイソフラボン化合物の製造)

実施例1に用いたと同じ醤油粕2 kgを直径約1 mmの粒子に粉碎した後、箱型乾燥機に入れて140℃で1時間加熱処理を行なった。放冷後、加熱処理した醤油粕1 kgをカラム(内径40 cm×高さ80 cm)に充填

し、水10 Lで洗浄した。その後、0.125 M水酸化ナトリウム水溶液10 Lで、洗浄した醤油粕を充填したカラムを通過せしめ、醤油粕中のイソフラボン化合物を抽出し、イソフラボン化合物を含むアルカリ水の抽出液8.7 Lを得た。この抽出液に、2 M塩酸を加え、抽出液のpHを7に調整した。次に、このpHを7に調整した抽出液をアンバーライトXAD-7 HP(オルガノ社製)を充填したカラム(内径5 cm×高さ20 cm)に、SVが10で通過せしめ、アルカリ水で抽出されたイソフラボン化合物を合成吸着剤に吸着させた。このカラムを水400 mLで洗浄した後、0.1 M水酸化ナトリウム水溶液をSV=3で流入、通過せしめ、吸着されたイソフラボン化合物を溶出した。イソフラボン化合物を含むアルカリ水の溶出液1200 mLを集めた。得られた溶出液に2 M塩酸の酸溶液を加え、pHを4に調整し、イソフラボン化合物の沈殿を析出せしめた。沈殿をメンブランフィルターで濾取した後、固形分を凍結乾燥して本発明のイソフラボン化合物の粉末3.15 gを製造した。この粉末の一部を、常法通りHPLC(日本分光社製)で分析したところイソフラボンアグリコンの純度は40.5%であった。

【0024】

【発明の効果】本発明によれば、従来、飼料や肥料などに利用されていた醤油醸造の副産物である醤油粕から、アルコールを用いることなく、容易に且つ効率よくイソフラボン化合物を製造することができる。本発明で得られたイソフラボン化合物は、イソフラボンアグリコンを高濃度に含有している。

フロントページの続き

(72)発明者 岡田 清
千葉県野田市野田250番地キッコーマン株式会社内

(72)発明者 小幡 明雄
千葉県野田市野田250番地キッコーマン株式会社内

Fターム(参考) 4C062 EE41 EE43